

**UNIVERSIDAD MILITAR  
NUEVA GRANADA**



**CONTRIBUCIÓN AL DESARROLLO DE UN SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE  
*APANTELES GELECHIIDIVORIS* (MARSH, 1975), SOBRE LARVAS DE *TUTA*  
*ABSOLUTA* (MEYRICK, 1917) ALIMENTADAS CON BASE EN UNA DIETA  
ARTIFICIAL**

**WALTER ANDRÉS GARCÍA SUABITA**

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR EL TÍTULO DE BIÓLOGO**

**DIRECTOR  
FERNANDO CANTOR PH.D**

**CO-DIRECTOR:  
DANIEL RODRÍGUEZ PH. D.**

**UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA  
FACULTAD CIENCIAS BÁSICA Y APLICADAS  
BIOLOGÍA APLICADA  
BOGOTÁ D.C  
2013**

**Prohibida la reproducción total o parcial sin la autorización expresa de los  
autores de este documento, lo cual está sujeto a las sanciones establecidas  
por la ley de derechos de autor**

**Contribución al desarrollo de un sistema de producción de *Apanteles  
gelechiidivoris* (Marsh, 1975), sobre larvas de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917)  
alimentadas con base en una dieta artificial**

**Estudiante:  
Walter Andrés García Suabita**

**Director: Fernando Cantor Ph.D**

**Co-Director: Daniel Rodríguez Ph. D.**

**Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas  
Programa de Biología Aplicada  
Universidad Militar Nueva Granada  
Abril del 2013**

## TABLA DE CONTENIDO

Contenido .....	4
Tomate Solanum lycopersicum .....	10
El cogollero del tomate Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae).....	11
Métodos de control .....	13
Control químico .....	13
Control cultural .....	14
Control biológico .....	14
Cría de insectos .....	15
Dietas reportadas para lepidópteros .....	17
Dietas reportadas para Tuta absoluta .....	18
OBJETIVO GENERAL .....	19
METODOLOGÍA .....	19
Área de estudio.....	19
Descripción de dietas.....	20
Modificaciones a la dieta propuesta por Misfeldt & Parra, 1999 .....	24
Evaluación del efecto de la concentración de agar en la dieta artificial sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de T. absoluta .....	24
Evaluación del efecto de la concentración de agar en la dieta artificial sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de T. absoluta .....	24
Evaluación del efecto de la concentración polvo de tomate en la dieta artificial, sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de T. absoluta .	24
Evaluación de diferentes dietas (artificial y natural) sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de T. absoluta .....	25
Variables a medir .....	26
Análisis de resultados .....	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	27
Evaluación del efecto de diferentes sustratos en porcentaje de eclosión de huevos de T. absoluta .....	27
Evaluación del efecto de la concentración de agar en la dieta artificial sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de T. absoluta .....	28
CONCLUSIONES .....	39
RECOMENDACIONES .....	39
ANEXOS.....	40
BIBLIOGRAFÍA.....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclo de vida de <i>Tuta absoluta</i> .....	13
<b>Figura 2.</b> Ciclo de vida <i>Apanteles gelechiidivoris</i> .....	15
<b>Figura 3.</b> Montaje para la evaluación de dieta natural en condiciones de laboratorio. 26	
<b>Figura 4.</b> Porcentaje de eclosión en diferentes sustratos (papel y dieta artificial).....	28
<b>Figura 5.</b> Porcentaje de huevos eclosionados a diferentes concentraciones de agar. 30	
<b>Figura 6.</b> Supervivencia promedio de larvas en días a diferentes concentraciones de agar. ....	30
<b>Figura 7.</b> Porcentaje de huevos eclosionados en cada concentración con polvo de tomate. ....	32
<b>Figura 8.</b> Supervivencia de larvas en días a diferentes concentraciones de polvo de tomate. ....	33
<b>Figura 9.</b> Longitud de la capsula cefalica de larvas en dietas artificiales con diferentes concentraciones de polvo de tomate.....	34
<b>Figura 10.</b> Porcentaje de huevos eclosionados en la dieta reportada en literatura junto con la dieta natural. ....	36
<b>Figura 11.</b> Supervivencia de larvas en las dietas reportadas en literatura junto con la dieta natural. ....	37
<b>Figura 12.</b> Longitud de la capsula cefalica de larvas en todas las dietas artificiales evaluadas .....	38

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición de dieta para T. absoluta reportada por Mihsfeldt & Parra (1999). .....	21
<b>Tabla 2.</b> Dieta para T. absoluta reportada por Marín et al. (2002).....	21
<b>Tabla 3.</b> Viabilidad y duración de larvas a diferentes concentraciones de agar. ....	31
<b>Tabla 4.</b> Viabilidad y duración de larvas a diferentes concentraciones de polvo de tomate. ....	35
<b>Tabla 5.</b> Viabilidad y duración de larvas en diferentes dietas.....	39
<b>Tabla 6.</b> Anova número de larvas eclosionadas a diferentes concentraciones de agar. ....	40
<b>Tabla 7.</b> Prueba de Tukey para el número de larvas eclosionadas para diferentes concentraciones de agar.....	40
<b>Tabla 8.</b> Anova duración de larvas a diferentes concentraciones de agar. ....	40
<b>Tabla 9.</b> Prueba de Tukey para la duracion de larvas a diferentes concentraciones de agar. ....	41
<b>Tabla 10.</b> Prueba de Tukey para el número de huevos eclosionados para diferentes concentraciones de polvo de tomate.....	41
<b>Tabla 11.</b> Anova duración de larvas a diferentes concentraciones de polvo de tomate. ....	42
<b>Tabla 12.</b> Prueba de Tukey para la duración de larvas a diferentes concentraciones de tomate. ....	42
<b>Tabla 13.</b> Anova numero de huevos eclosionados para las dietas evaluadas.....	42
<b>Tabla 14.</b> Prueba de Tukey para el número de huevos eclosionados para diferentes dietas evaluadas.....	42
<b>Tabla 15.</b> Anova duracion de larvas para las dietas evaluadas .....	43
<b>Tabla 16.</b> Prueba de Tukey para el duración de larvas en las dietas evaluadas .....	43

## RESUMEN

*Tuta absoluta* es una de las principales plagas que ataca el tomate. Este fitófago en su estado larval mina las hojas y barrena el cogollo provocando disminución del rendimiento del cultivo. Actualmente el parasitoide *Apanteles gelechiidivoris* constituye como un método con gran potencial para el control de la plaga en cultivos. Una alternativa, es la producción de (*T. absoluta*) sobre una dieta artificial. Por esta razón se evaluaron diferentes tipos de dietas artificiales que podrían emplearse para la cría de la plaga. La investigación se realizó bajo condiciones de laboratorio, a temperatura media de  $18,8^{\circ}\text{C} \pm 0.49$  y una humedad relativa media de  $74,8 \% \pm 3.96$ . Las dietas fueron preparadas según lo descrito por Misfeldt y Parra (1999) y Marin *et al.* (2001). Evaluando diferentes variables para la primera dieta como son concentración de agar y polvo de tomate. Cada experimento con 6 repeticiones. Para la segunda dieta no se varió ningún ingrediente. En cada dieta se evaluó el número de huevos eclosionados. Como resultados se obtuvo que la mayor eclosión de huevos ( $6.17 \pm 0.75$ ). En cuanto al polvo de tomate 7.5 gramos número de huevos eclosionados ( $8 \pm 0.89$ ), Se ha determinado que la concentración de polvo de tomate 7.5 g y 18 g es la más útil al momento de implementar una dieta para *Tuta absoluta*.

## JUSTIFICACIÓN

La producción del cultivo de tomate ha aumentado en los últimos años, pasando de cerca de 300 a un poco más de 450 toneladas en el 2008. Este producto se ha convertido en un cultivo promisorio como fuente de empleo y con posibilidad de expansión a nuevos departamentos. Actualmente, se encuentra distribuido en los departamentos de Cundinamarca (2.171 ha), Norte de Santander (1.916 ha), Valle del Cauca (1.756 ha), Huila (1.603 ha), Santander (1.405 ha), Caldas (940 ha) y Boyacá (903 ha). Sin embargo, la importancia de los departamentos cambia respecto a su producción a nivel nacional, teniendo como primer departamento Boyacá con el 18.5%, segundo Norte de Santander con el 16.7%, tercero Caldas con el 12.7% y cuarto Antioquia con el 9.1% (Agronet, 2010).

El departamento de Boyacá se encuentra de séptimo en área sembrada, pero en producción se encuentra en primer lugar, lo que lleva a concluir que ésta región puede ser mejor explotada agrícolaemente. Sin embargo, los cultivos de tomate presentes en esta región son afectados por diversos problemas fitosanitarios, uno de los más importantes es el ataque del cogollero del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) (Meyrick, 1917).

Esta plaga se alimenta del tejido vegetal atacando el cogollo de las plantas, botones florales, tallos y frutos, llegando a disminuir la producción hasta en un 100% (Uchoa, 1992; Pinheiro, 1999; Attygalle *et al.*, 1996; Della Lucia *et al.*, 2001). Por lo anterior, los agricultores están en la búsqueda de diversas estrategias que permitan el control de la plaga, en donde utilizan como primera medida aplicaciones de agroquímicos, los



cuales son fáciles de utilizar y rápidos en el momento de ver el efecto en la disminución de la población plaga.

Sin embargo, este tipo de control no sólo promueve la resistencia a químicos por parte de la plaga, lo que conduce a aplicaciones más frecuentes de los productos y al uso de los mismos con mayor grado de toxicidad (Michereff y Vilela, 2001, Della Lucia *et al.*, 2001, Pinheiro, 1999, Attygalle *et al.*, 1996), sino que también disminuye la diversidad de enemigos naturales y dificulta la recomposición de redes tróficas naturales.

Por estas razones, se han intentado utilizar diferentes tipos de control alternativos como control etológico (por medio de septos con feromona sexual) y liberación de controladores biológicos, como *Apanteles gelechiidivoris*. Además, en los últimos años, la Universidad Militar Nueva Granada (UMNG), ha ampliado la información acerca de este parasitoide, en cuanto a su biología y ciclo reproductivo (Bajonero *et al.*, 2008), instar larval de preferencia (Escobar *et al.*, 2006), comportamiento en conjunto con el control etológico en condiciones de campo (Morales *et al.*, 2008), influencia de factores como temperatura en su capacidad parasítica (Bajonero *et al.*, 2008) y nivel de daño (Cely, 2006). Los anteriores resultados, han permitido considerar al parasitoide *A. gelechiidivoris* como un controlador con gran potencial para disminuir las poblaciones de la plaga, sin presentar los mismos problemas que el control químico. Teniendo en cuenta que algunos reportes indican que este parasitoide puede controlar hasta en un 70% las poblaciones del cogollero del tomate en condiciones de campo. (Morales y Muñoz, 2008)

Esta nueva estrategia de control biológico, debe estar garantizada por crías masivas del enemigo natural. En la UMNG se han desarrollado algunos pies de crías del parasitoide sobre dietas naturales, sistema que aunque efectivo, requiere gran cantidad de mano de obra, insumos y área, además no supe con la demanda de los productores del sector tomatero en Boyacá.

Por lo anterior, se ha considerado la evaluación de sustratos artificiales para la producción de la plaga como recurso para la oviposición del enemigo natural. Se ha demostrado que el uso de estos sistemas permite optimizar e incrementar los volúmenes de producción en Colombia, no existe un esquema de producción masiva para *Tuta absoluta* en medio artificial. En Brasil y Argentina se reportan dietas artificiales para *Tuta absoluta* que no han sido usadas en la cría masiva de este fitófago, razón por la cual se debería aumentar la investigación en este tipo de temas lo que favorecería positivamente la obtención de un mayor numero de individuos (Mishfeldt y Parra, 1999) (Marín *et al.*, 2001)

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### **Tomate *Solanum lycopersicum***

El tomate, es una de las hortalizas más consumidas en el mundo, siendo la china el principal productor con 48,576,853 toneladas, seguido por la india con 16,826,000 toneladas y en tercer lugar aparece Estados Unidos de América con 12,624,700 toneladas, en Colombia se producen 595,299 toneladas (FAO, 2011) y se cultivan 16.000 hectáreas de tomate de las cuales un 20% se produce bajo invernadero (SNE, 2009). La creciente demanda de este producto ha generado un aumento en las áreas

de producción no solo a campo abierto sino también bajo cubierta. Las zonas productoras del país se localizan en Norte de Santander, Cundinamarca, Valle del Cauca, Antioquia y Boyacá (SNE, 2009).

Una de las plagas que afectan en gran medida la producción de cultivos de tomate es el cogollero del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). Este lepidóptero, en su estado de larva perfora las hojas, rasga y pega las hojas del cogollo, barrena el tallo, ramas y frutos propiciando la caída de botones, flores y frutos (Vélez, 1997). Las larvas penetran la superficie de la hoja dejando galerías comúnmente denominadas "minas" dentro de las cuales se pueden observar las larvas a trasluz. Los daños ocasionados por este insecto se pueden observar en todos los estados fenológicos (García, 1993) y la severidad del daño depende directamente del microclima y de la situación de cada finca (De Vis et al., 2001). La falta de control de esta plaga, puede llegar a producir pérdidas del rendimiento comercial del orden del 90% (De Vis et al., 2001; Estay, 2000).

### **El cogollero del tomate *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)**

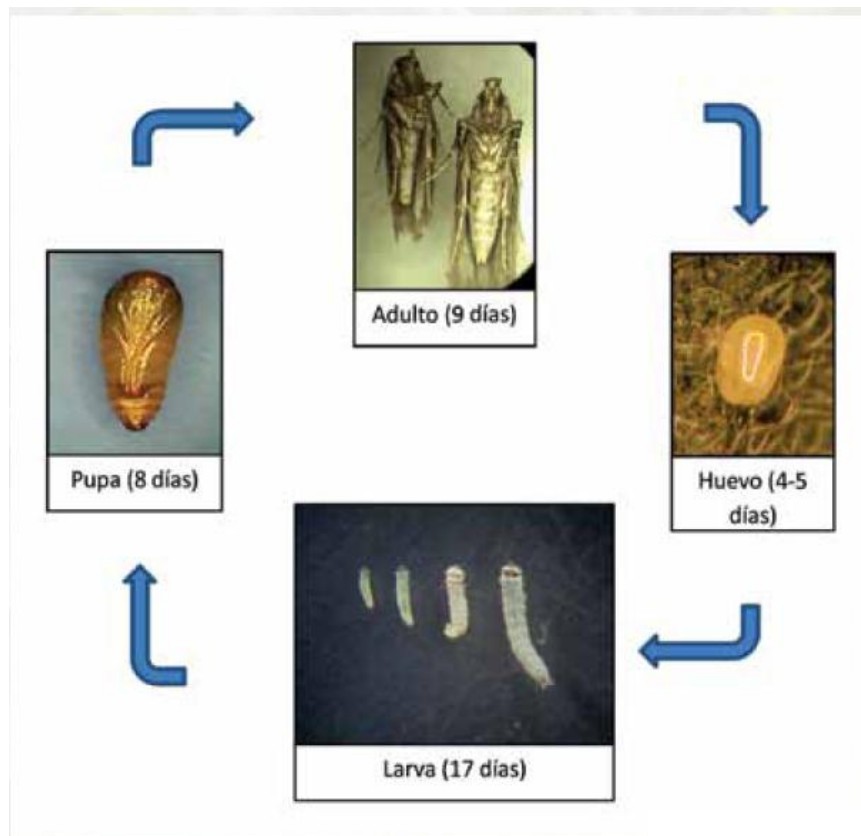
*Tuta absoluta* fue descrita originalmente como *Phthorimaea absoluta* por Meyrick en 1917, posteriormente fue descrita por Polvony en 1994 (Desneux et al., 2010). *T. absoluta* es una especie multivoltina y estratega r, prefiere plantas de tomate aunque se puede alimentar de otras solanáceas como *Solanum melongena* y *Solanum tuberosum*, alimentándose especialmente de las regiones aéreas sin afectar el desarrollo del tubérculo (Desneux et al., 2010). Su ciclo de vida comprime 4 estadios de desarrollo descritos a continuación (Figura 1):

**Huevo:** Tiene una duración promedio de 4 a 5 días (Velez, 1997), presenta una forma elíptica de color amarillo, mide cerca 0.4 mm de alto y de ancho 0.2 mm, los adultos ovipositan preferentemente de forma aislada sobre el envés de los folíolos, a veces entre los tallos de la planta y raramente sobre los frutos del tomate (Soares, 2010).

**Larva:** Tiene una duración de 17 días (Velez, 1997), Posee la cabeza negra y cuerpo amarillento, presenta 4 instares de desarrollo con una longitud para la capsula cefálica instar 1(0.147 mm), instar 2(0.237 mm), instar 3 (0.371 mm) (Instar preferido a ser parasitado por *Apanteles gelechiidivoris*) y instar 4 0.680 mm), estas se alimentan preferiblemente de estructuras cercanas a los tallos y a los frutos (Soares, 2010);(Bogorni y Carvalho,2006).

**Pupa:** Tiene una duración de 8 días (Velez, 1997), mide aproximadamente 4 mm de ancho y 10 mm de longitud, presenta una forma cilíndrica de color café, se encuentra rodeado por un capullo de sedas, este estado puede desarrollarse tanto en la planta como en el suelo, al terminar su desarrollo emerge una polilla (Soares, 2010).

**Adulto:** Tiene una duración de 9 días (Velez, 1997), la polilla posee en su primer par de alas moteado con manchas oscuras, el segundo par de alas es más oscuro, los maduros pueden llegar a medir 7 mm de largo, poseen el hábito de vuelo crepuscular y durante el día permanecen ocultos en las plantas (Soares, 2010).



**Figura 1.** Ciclo de vida de *Tuta absoluta* a 21°C y 70% HR. Morales y Muñoz (2008).

## Métodos de control

### Control químico

Para el control de esta plaga, se utiliza tradicionalmente el control químico. Debido al comportamiento del insecto se requieren dosis frecuentes y elevadas de productos que contienen Thiocyclam, Hidrogenoxalato Carbofurano, Metamidofos, Cypermetrina, Metomil, Teflubenzuron, Imidacloprid y Abamectina, en dosis y frecuencias elevadas (Guedes *et al.*, 1994). Se ha reportado resistencia a moléculas como el Cartap, Abamectina y Phermetrina (Siqueira *et al.*, 2000) y la utilización de productos de síntesis química reducen la presencia de enemigos naturales de estas plagas, genera resistencia y afecta el medio ambiente (Guedes *et al.*, 1994), algunos productos que contienen como ingrediente activo Triflumuron, Abactin y Clorfenapir han demostrado tener un efecto importante sobre la plaga teniendo mortalidades superiores al 63%,

siendo Clorfenapir el producto que mayor mortalidad tiene sobre el fitófago y el que presenta menor residualidad además no tiene un efecto importante sobre poblaciones de enemigos naturales como es el caso de Triflumuron que reduce la mortalidad en un 30% (Riquelme *et al.*, 2006). Otros productos como el benzoato de emamectina y spinosad han sido exitosos al momento de controlar *T. absoluta* en invernadero logrando casi el 83% de mortalidad para el primero y 88% de mortalidad para el segundo, estos pesticidas son usados actualmente para el control de larvas del cogollero del tomate (Gacemi y Guenaoui, 2012; Dos Santos *et al.*, 2011), imidacloprid ha resultado efectivo al momento de disminuir el umbral de daño económico reportado en 63.48% de folíolos por planta de tomate reduciendo en casi un 45% el daño generado por la plaga (Collavino y Gimenez, 2008)

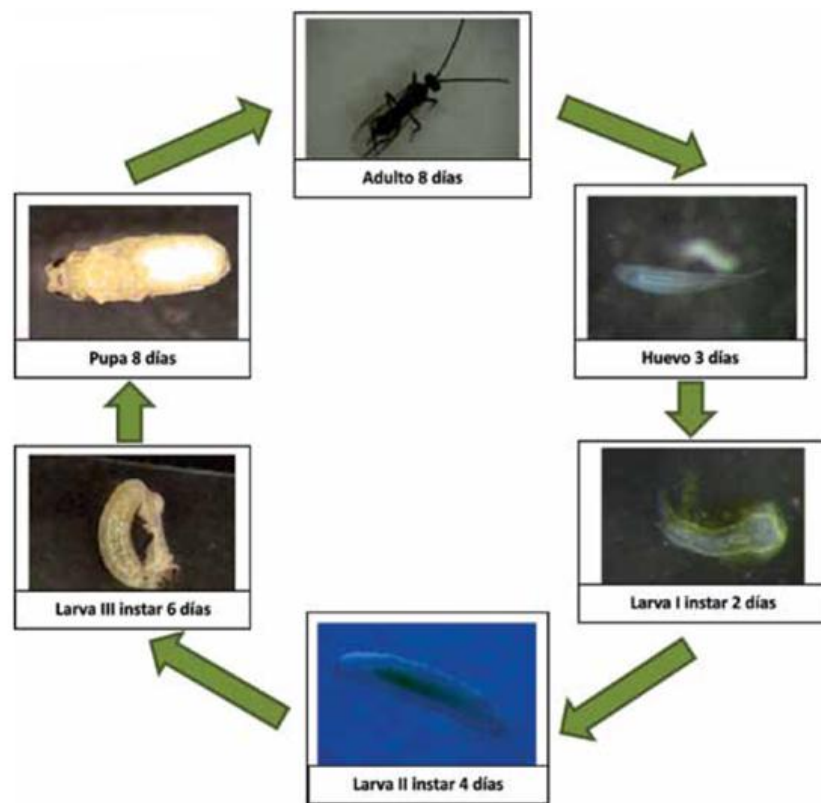
### **Control cultural**

Para el control de *T. absoluta* se hace control de maleza y manejo de residuos de cosecha que puedan ser focos para que la plaga se desarrolle (Pratisoli *et al.*, 2005)

### **Control biológico**

El uso de enemigos naturales ha sido una alternativa para disminuir el nivel poblacional de *T. absoluta*, dentro de estos el entomopatógeno *Bacillus thuringiensis* ataca las larvas de *T. absoluta* provocando mortalidades del 100% en condiciones de laboratorio (Ramirez *et al.*, 2010), por otro lado el parasitoide *Trichogramma pretiosum*, ha tenido buenos resultados llegando casi al 73% de huevos parasitados con una liberación de 16 individuos por huevo (Pratisoli *et al.*, 2005), adicionalmente se usa *Apanteles gelechiidivoris* que parasita las larvas de tercer y cuarto instar de *T. absoluta* que se encuentra expuestas en la superficie de la hoja o en el tejido medio de estas. En cuanto a su ciclo de vida *A. gelechidivoris* presenta cuatro estadios de

desarrollo huevo con un duración promedia de 3 días, tres estados larva cada uno con una duración de 2.6, 4.2, 5.4 días respectivamente, un estado de pupa con duración 9.6 días y adulto 6.9 días a una temperatura de 20°C (Bajonero *et al.*, 2008) para el control del cogollero reportando hasta un 70% de parasitismo en larvas de la plaga (Morales y Muñoz, 2008) (Figura 2).



**Figura 2.** Ciclo de vida *Apanteles gelechiidivoris* a 20°C y 67% HR. Bajonero et al (2008).

### **Cría de insectos**

El objetivo de una cría para insectos es obtener un gran número de individuos con una calidad considerable. La principal dificultad es producir un sustrato fresco que sea nutricionalmente completo y que favorezca la alimentación de los individuos. Para el inicio de una cría se deben obtener especímenes viables y garantizar una mortalidad limitada con el fin de aumentar la producción de organismos (Schowalter, 2006). La obtención de insectos se puede dar mediante 2 esquemas básicos.

**Dieta natural:** los insectos principalmente fitófagos se pueden criar proporcionando alimentos propios de su hábitat como lo son los tallos, las hojas o frutos, que en cantidades suficientes proporcionan los nutrientes necesarios para el desarrollo del organismo, el uso de sustratos que se encuentran disponibles de manera comercial permiten y facilitan la obtención de individuos, un ejemplo es el uso de sustratos alternativos como lo es el alimento de perro seco para la cría de cucarachas o la lechuga para saltamontes (Schowalter, 2006).

**Dietas artificiales:** permiten la obtención de individuos teniendo un costo reducido, además de maximizar el espacio necesario para una dieta natural, actualmente este tipo de esquema se está usando como bioreactor para la producción de insectos necesarios para diferentes industrias. Las dietas aunque efectivas presentan limitantes en cuanto al conocimiento de componentes propios de estas, ya que no se tienen en cuenta disciplinas necesarias para el desarrollo de este tipo de sustratos como lo son la bioquímica, la microbiología y la nutrición animal (Cohen, 2004). Según Cohen (2004) las diferencias entre una buena o mala dieta artificial son:

- Una buena dieta contiene apropiados estímulos que provocan un aumento en la alimentación.
- Una dieta exitosa contiene todos los nutrientes esenciales en cantidades apropiadas.
- Los componentes deben estar bien organizados en matrices, esa organización facilita que los componentes se encuentren biológicamente disponibles.
- Los componentes se deben encontrar de forma disponible.
- Al estar organizados en matrices los componentes proporcionan una estabilidad química que se ajustan a las necesidades del insecto.



- Las dietas se deben mantener fresco de acuerdo a las necesidades de los insectos, el concepto de fresco debe ser modificado para los insectos que se alimenten de dietas con componentes que se encuentren en descomposición.
- Todas las dietas mantienen generaciones sucesivas de insectos, garantizando su progenie.
- En dietas exitosas los antinutrientes deben ser eliminados o reducido de manera exitosa.
- Las proporciones de macronutrientes están de acuerdo al objetivo de la adaptación para la alimentación.

### **Dietas reportadas para lepidópteros**

Se han reportando varias dietas para lepidópteros en donde sus ingredientes se asemejan a las reportadas por Mihsfeldt y Parra (1999) y Marín *et al.* (2002). Como es el caso de *Hypsipyla grandella* en la que se usa colesterol como fuente de ácidos grasos y sales Wesson que son usadas como suplemento para la construcción de membranas celulares y tejidos. En dieta se usa una fuente vegetal proveniente del cedro con el fin de mejorar la duracion de este fitófago (Vargas et al., 2001). Otra dieta reportada para este grupo de insectos es para *Zeuzera pyrina* plaga de varios cultivos frutales. Para fuente de alimento artificial se varió la dieta con ácidos grasos y cloranfenicol como antibiótico. Esta dieta arrojó resultados positivos disminuyendo el tiempo de desarrollo del fitófago. Además de aumentar la supervivencia en un 86% y la formación de pupas en un 85% (Garcia y Haro, 1986). *Copitarsia incommoda* plaga de varios cultivos de crucíferas, ha sido criada en un dieta con ingredientes similares a los de Marín *et al.* (2002), usando coliflor deshidratado como variable en esta dieta, en la que se obtuvo una longevidad de 27 días. Además su supervivencia y reproducción fue alta al criarlas en condiciones artificiales (Acatitla *et al.* 2004). *Phyciodes phaon* es

otra especie que ha sido criada en dietas artificiales en las cuales se usó como variación a las otras dietas, diferentes azúcares y mezcla de sales. Este método de cría afecta la fisiología del insecto reduciendo su reproducción considerablemente (Genc y Nation, 2004). La dieta de Morton (1978) se ha usado ampliamente en varias familias de lepidópteros y a partir de estas se han hecho varias modificaciones, variando el antibiótico y agregando vitaminas o retirando las sales de Wesson.

### **Dietas reportadas para *Tuta absoluta***

Con respecto a *Tuta absoluta*, Giustolin *et al.* (1995) evaluaron diez posibilidades de dieta artificial con diferentes fuentes proteicas de donde se concluyó que la más adecuada para la cría de esta plaga fue una formulación a base de frijol variedad Carioca, germen de trigo, caseína, levadura y proteína de soya. Posteriormente Mihsfeldt y Parra (1999) realizaron un estudio sobre ocho tipos de dieta donde se variaba la fuente proteínica y se adicionaba un extracto de hojas de tomate. De este trabajo se concluyó que una dieta promisorio consiste en una formulación con frijol blanco y extracto de hojas de tomate variedad Santa Clara, adicionalmente Marin *et al.*, 2002 desarrollaron una dieta artificial usando solo frijol como principal fuente vegetal, además de no usar una solución vitamínica para la evaluación del sustrato artificial.

## **OBJETIVO GENERAL**

Contribuir al desarrollo de un sistema de producción de larvas de *Tuta absoluta* alimentadas con base en una dieta artificial.

### **Objetivos específicos**

Evaluar el efecto de diferentes dietas (artificial y natural) sobre parámetros de crecimiento como duración, viabilidad y sobrevivencia en larvas de *Tuta absoluta*.

Evaluar diferentes modificaciones de dietas artificiales que favorezcan diferentes parámetros de crecimiento como duración, viabilidad y sobrevivencia de larvas.

Determinar una dieta artificial que favorezca el desarrollo y la obtención de mayor número de individuos de *Tuta absoluta* susceptibles a ser parasitados por *Apanteles gelechiidivoris*.

## **METODOLOGÍA**

### **Área de estudio**

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Control Biológico de la Facultad de Ciencias Básicas y Aplicadas de la Universidad Militar Nueva Granada, ubicado en el municipio de Cajicá-Cundinamarca, en condiciones semicontroladas de temperatura ( $18.8^{\circ}\text{C} \pm 0.49$ ) y humedad relativa ( $74.8\% \pm 3.96$ ), se realizó un diseño completamente al azar para cada uno de los experimentos realizados.

## **Obtención de los individuos de *Tuta absoluta* necesarios para los ensayos**

Para ubicar los huevos de *T. absoluta* en cajas de Petri con las dietas descritas anteriormente, se ubicaron en cajas plásticas (33 x 24 x 10cm) hojas de tomate cada una sumergida en un acuapin con agua, las cuales fueron infestadas con adultos en una proporción de cinco hembras por un macho de *T. absoluta*, provenientes de la cría del parasitoide en instalaciones de la UMNG en Cajicá. Veinticuatro horas después fueron retirados los adultos y se tomaron los huevos con un pincel pelo de marta y se ubicaron 10 huevos por unidad experimental en cada caja de petri con la dieta.

## **Descripción de dietas**

Se evaluaron las dietas propuestas por Mihsfeldt y Parra (1999) basadas en la dieta publicada por Guistolin *et al.* (1995) (Tabla 1) y Marín *et al.* (2002) (Tabla 2), con el fin de determinar cuál de estas era la más viable al momento de ser usada en la cría masiva de *Tuta absoluta*.

**Tabla 1.** Composición de dieta para *T. absoluta* reportada por Mihsfeldt & Parra (1999).

COMPONENTE	CANTIDAD
Fríjol	75,0 g
Gérmen de trigo	60,0 g
Salvado de soya	30,0 g
Caseína	30,0 g
Levadura de cerveza	37,5 g
Acido ascórbico	3,6 g
Acido sórbico	1,8 g
Metilparahidroxibenzoato	3,0 g
Tetraciclina	113,0 mg
Formaldehido	3,6 ml
Solución vitamínica ( niacinamida: 1,0 g, pantotenato de calcio: 1,0 g, tiamina 0,5 g; piridoxina: 0,25 g; acido folico 0,1g ; biotina :0,02 g ; vitamina B12( 1000mg/cc): 2,0 ml	9,0 ml
Agar	23,0 g
Agua	1200,0 ml

**Tabla 2.** Dieta para *T. absoluta* reportada por Marín et al. (2002).

COMPONENTE	CANTIDAD
Fríjol	426 g
Levadura de cerveza	64 g
Acido sórbico	2 g
Acido ascórbico	7 g
Metilparahidroxibenzoato(Nipagin)	4 g
Formaldehido	4 ml
Agar	25 g

Las anteriores dietas presenta componentes ricos en fuentes proteicas como lo son el frijol, el germen de trigo y la caseína, además de ser fuente de carbohidratos y minerales como el calcio el magnesio y el fosforo. En cuanto a la levadura y la soya complementan la proporción necesaria de nutrientes para el desarrollo de las larvas como los antioxidantes. El acido ascórbico proporciona una defensa efectiva para los insectos evitando el ataque por posibles patógenos que puedan provocar una alta mortalidad en las larvas. El acido sorbico y Metilparahidroxibenzoato son conservantes evitando el crecimiento de ciertos agentes microbianos, una función similar la tiene la tetraciclina y el formaldehido evitando la contaminación por cualquier agente externo que pueda afectar el desarrollo de las larvas. Las vitaminas son importantes cofactores de varias reacciones enzimáticas asimismo reducen la aparición de radicales libres que pueden ser tóxicos para los organismo, por ultimo el agar da consistencia al medio además de proporcionar una fuente significativa de carbohidratos que usan como materia prima para la producción de energía.

### **Preparación de la dieta Mihsfeldt & Parra 1999**

Se licuaron los frijoles Cabeza Blanca, los cuales fueron previamente cocinados en 500 ml de agua destilada junto con la soya, la levadura y el germen de trigo. Simultáneamente se disolvieron en 500 ml de agua destilada la caseína, el acido ascórbico, el ácido sórbico, el Metilparahidroxibenzoato y la tetraciclina. La solución anterior se mezcló con los ingredientes licuados y se sirvieron en frascos tapa azul de 1000 ml. Se agregó el extracto vegetal y el formaldehido. Por último, se filtró la dieta con ayuda de un colador para obtener una solución homogénea.

### **Preparación del extracto vegetal**

Se secaron en un horno 250 g de hojas de tomate tipo chonto variedad Santa Clara, a aproximadamente 70°C. Estas hojas fueron maceradas y se agregaron a la dieta en las concentraciones que fueron evaluadas en el ensayo para cada una de las dietas.

### **Preparación de la solución vitamínica**

Se tomaron 1000 mg de vitamina B12 y fueron disueltos en 2 ml de agua destilada. Paralelamente, la niacimida, el pantotenato de calcio, la tiamina, la pridoxina, el ácido fólico, biotina se disolvieron en 500 ml. Las dos soluciones fueron mezcladas y adicionadas a la dieta.

Luego de preparar la dieta, ésta fue calentada en una plancha de calentamiento con agitación y se agregó la cantidad de agar previamente disuelto en 250 ml de agua. Cuando la dieta llegó a la temperatura de ebullición se agregaron 50 ml de la solución de agar y se le adicionó la solución vitamínica. Cuando la temperatura disminuyó se vertió en cajas de petri de 60 x 15 mm.

### **Preparación de la dieta establecida por Marin *et al.*, 2002**

Se licuaron los frijoles cabeza blanca en 600mL de agua destilada con los frijoles previamente cocinados. La levadura, el ácido sórbico, el ácido ascórbico y el nipagin fueron disueltos en 600 ml de agua destilada. Luego se mezcló el licuado junto con la solución. Esta mezcla fue filtrada y se agregó el formaldehído a la dieta que luego fue servida en un frasco tapa azul de 1000 ml.

La dieta fue calentada y cuando llegó al punto de ebullición se agregaron 50 ml de la solución de agar. Esta solución se preparó disolviendo en 250 ml de agua la cantidad de agar reportada. Posteriormente la dieta fue vertida en cajas de Petri de 22 x 35 mm.

### **Modificaciones a la dieta propuesta por Misfeldt & Parra, 1999**

#### **Evaluación del efecto de la concentración de agar en la dieta artificial sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de *T. absoluta***

Con el fin de determinar el porcentaje de eclosión de huevos de *T. absoluta* según el sustrato de eclosión, se evaluaron los siguientes sustratos: 1) papel absorbente y 2) dieta artificial. Teniendo en cuenta lo reportado por Misfeldt y Parra (1999) quienes usan papel para obtener larvas recién eclosionadas, esto puede provocar una mortalidad alta en larvas debido a la manipulación que se hace al tratar de ubicar los individuos sobre la dieta artificial, para cada sustrato se tomaron seis repeticiones.

#### **Evaluación del efecto de la concentración de agar en la dieta artificial sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de *T. absoluta***

Según Misfeldt y Parra (1999) al reducir la cantidad de agar entre un 8 y 10% en una dieta, el cual determina la dureza de la misma las larvas podrían disminuir su movilidad y aumentar su mortalidad. Por esta razón se realizó un ensayo evaluando la dieta artificial preparando esta como se describe previamente reduciendo la concentración de agar en un 10% a partir 22 g y hasta 16 g, cada tratamiento con seis repeticiones observando la duración y número de huevos eclosionados.

#### **Evaluación del efecto de la concentración polvo de tomate en la dieta artificial, sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de *T. absoluta***



Según Mihsfeldt & Parra (1999) la cantidad de polvo de tomate funciona como fagoestimulante aumentando la viabilidad y reduciendo la mortalidad de larvas. Por esta razón se realizó un ensayo en el que se evaluaron tres concentraciones de este ingrediente las cuales fueron 7.5 g, 15 g y 25 g con seis repeticiones para cada tratamiento con 3 replicas en el tiempo. Para este ensayo se determinó la duración y número de huevos eclosionados.

### **Comparación de diferentes dietas (artificial y natural) sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de *T. absoluta***

Se evaluaron simultáneamente las dietas reportadas por Mihsfeldt & Parra (1999), Marín *et al.* (2002) y la dieta natural con plantas de tomate de aproximadamente 5 semanas de edad, ubicándolas en jaulas de vidrio separadas con icopor para evitar el paso de las larvas de una planta a otra. Posteriormente se infesto con 10 huevos *T. absoluta* situándolos estos en diferentes foliolos de la planta como se observa (Figura 3). Para la dieta propuesta por Marín *et al.* (2002) se agregó 7.5 g de polvo de tomate a la dieta propuesta con el fin de suplir las falencias que se puedan presentar en esta. Por ultimo a la dieta de Mihsfeldt & Parra (1999) se le hicieron modificaciones en concentraciones de polvo de tomate y a la concentración de agar. Cada modificación se hizo teniendo en cuenta lo obtenido en cada uno de los experimentos anteriores, para cada tratamiento se tomaron seis repeticiones.



**Figura 3.** *Montaje para la evaluación de dieta natural en condiciones de laboratorio.*

### **Variables a medir**

Como variables se midieron porcentaje de eclosión de larvas en las dietas preparadas, duración de larvas en días, viabilidad de larvas y número de instares larvales al que llegaban las larvas en cada una de las dietas, lo cual se obtuvo usando el método descrito por Dyar (1980). Este método consiste en medir los extremos de los bordes laterales de la capsula cefálica de cada individuo teniendo en cuenta lo reportado por Bogorni y Carvalho (2006), teniendo en cuenta que un incremento en el tamaño de esta región es tipo geométrico exponencial en cada uno de sus instares sucesivos. Además, se registraron variables abióticas como humedad relativa y temperatura con la ayuda de un higrómetro digital (HOBO).

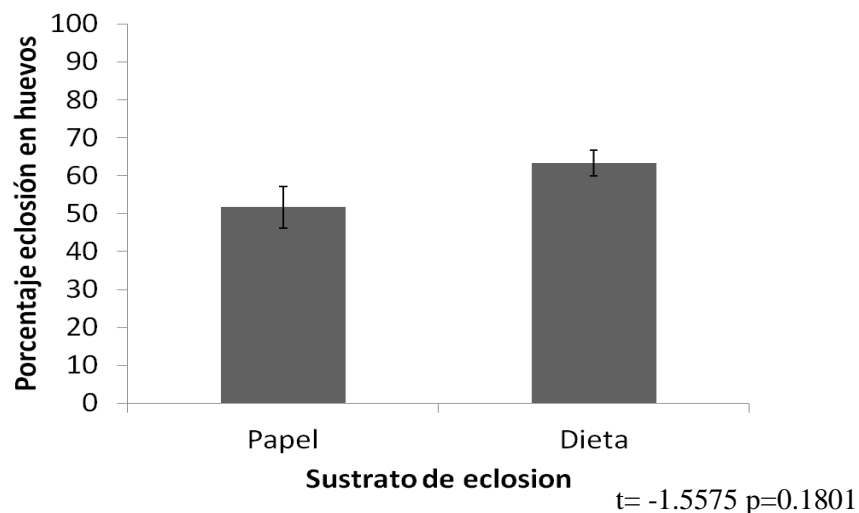
### **Análisis de resultados**

Para el análisis de resultados se realizó un ANOVA para los datos obtenidos, pruebas de Shapiro-Wilk y de Tukey con ayuda del software estadístico R, adicionalmente se procesaron las imágenes con el software Image J.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Evaluación del efecto de diferentes sustratos en porcentaje de eclosión de huevos de *T. absoluta***

Con el fin de reducir la mortalidad por manipulación, para el presente trabajo se siguieron las recomendaciones de Mihsfeldt y Parra (1999), que consistían en ubicar huevos sobre papel y posterior a su eclosión pasar las larvas a la dieta artificial, provocando un posible aumento de la mortalidad, por esta razón se ubicaron los huevos directamente sobre la dieta que suministra una alta humedad favoreciendo la obtención de un mayor número de larvas como se observa en la Figura 4. Pierce y Monk (2007); Limonta *et al.* (2010a); Limonta *et al.* (2010b) reportan para varias familias de lepidópteros que en humedades relativas mayores al 70% y temperatura de 17°C se obtiene una eclosión promedio de casi el 63%, similar a lo obtenido en este caso donde la eclosión fue en promedio de 63.3% huevos. Al evaluar los dos sustratos de eclosión no se encontraron diferencias significativas ( $p=0.1801$ ), razón por la cual se decidió no usar papel como sustrato de eclosión ya que la manipulación podría aumentar la mortalidad propia de las larvas de *T. absoluta*.

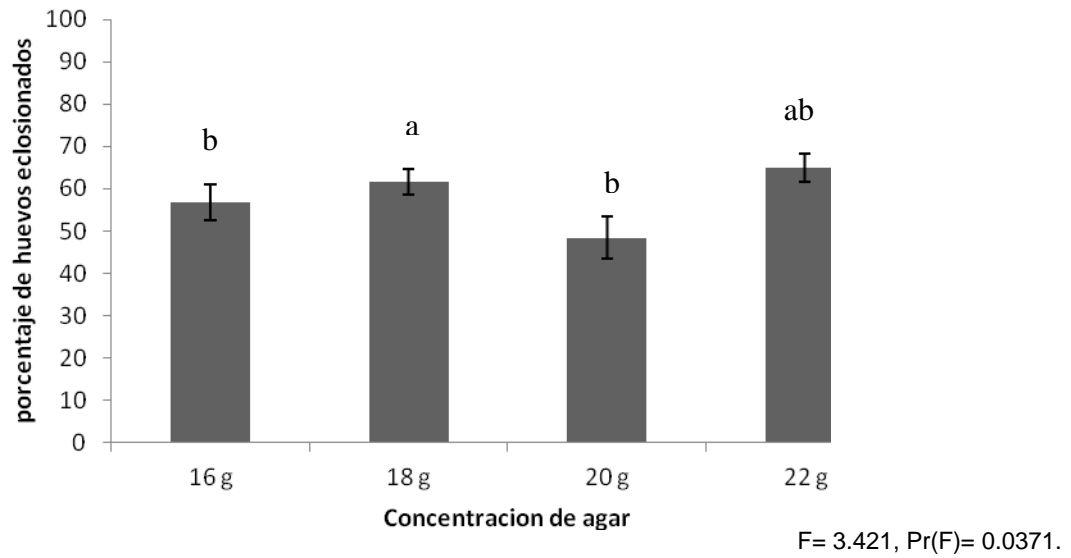


**Figura 4.** Porcentaje de eclosión en diferentes sustratos (papel y dieta artificial).  $18,8^{\circ}\text{C} \pm 0.49$  y  $74,8\% \pm 3.96$ .

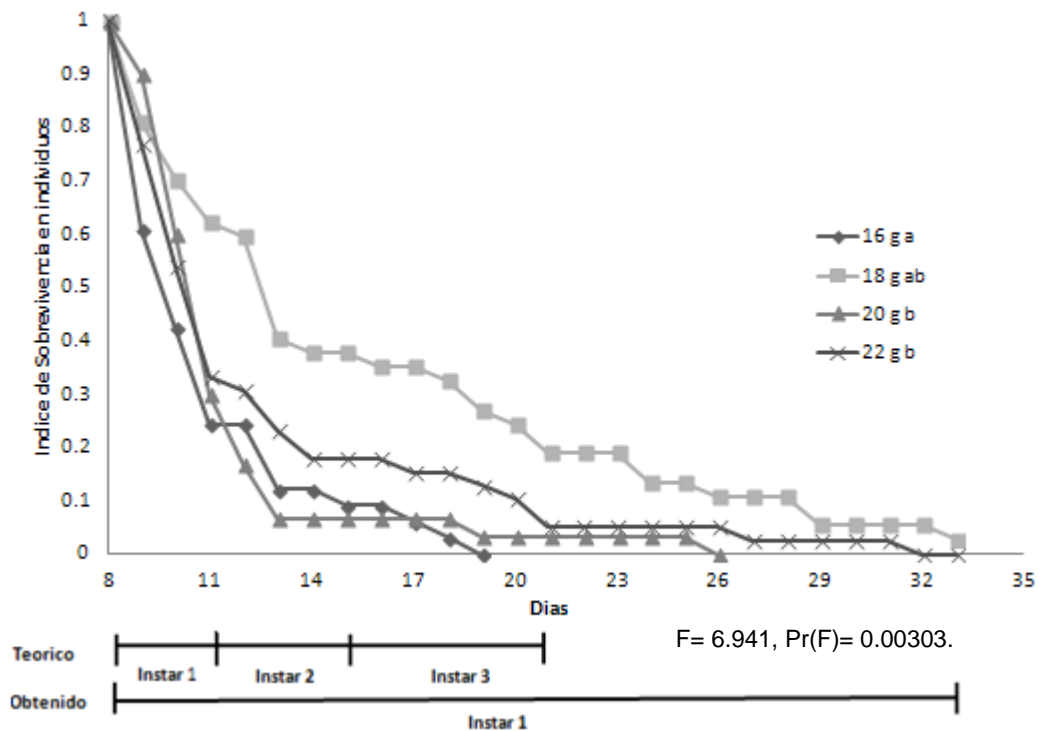
#### **Evaluación del efecto de la concentración de agar en la dieta artificial sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de *T. absoluta***

En la Figura 5 se observa que en la concentración de 18 g y 22 g de agar la eclosión es significativamente mayor ( $p=0.0371$ ) a las concentraciones de 16 g y 20 g, teniendo en cuenta que en la dieta artificial la humedad relativa puede llegar al 75%, similar a la necesaria para el desarrollo de *T. absoluta* que es del 76.17% (Fernández y Montage 1990) por lo anterior las concentraciones de 18 g y 22 g pueden proporcionar las condiciones en como humedad optima para la eclosión de individuos. Por otro lado, la sobrevivencia en días mostrada en la Figura 6 fue significativamente mayor ( $p=0.00303$ ) en el tratamiento de 18 g, además de presentar una curva tipo III propia similar a lo obtenido por Pereyra y Sánchez (2006), en la que los primeros estadios de desarrollo tienen una mayor probabilidad de sobrevivencia, razón por la cual se debería seguir usando esta concentración ya que se asemeja a una curva en larvas alimentadas con dieta natural, también se debe tener en cuenta que fue la concentración de agar en la que se obtuvo mayor sobrevivencia promedio siendo del 30.1%, seguida de la concentración de 16 g con el 27%, menor a lo reportado para

este estado de larvas en plantas de tomate por Medeiros *et al.*, (2006) obteniendo un 63% de sobrevivencia. Según Mihsfeldt y Parra (1999) la dureza del medio puede dificultar la alimentación de las larvas. Como se puede observar en este caso, en las concentraciones de 20 y 22g de agar se redujo la sobrevivencia de las larvas, debido a la dificultad que podrían presentar al tratar de alimentarse de la dieta artificial, en cuanto a la concentración con menor agar las larvas tenían una menor sobrevivencia en los primeros días, debido a que la alta humedad dificultaba el movimiento de estas sobre la dieta disminuyendo la capacidad para la búsqueda de alimento de los inmaduros y provocando un alta mortalidad por la dificultad que tenía para alimentarse. Bavaresco *et al.*, (2005) recomiendan disminuir la concentración de agar para la cría *Hypocala andremona* lepidóptero que presenta el mismo hábito alimenticio de *T.absoluta*, lo que concuerda con lo obtenido en este experimento en el cual al disminuir este factor se obtiene una mayor duración en días en larvas de *T. absoluta* (Tabla. 3). Para la viabilidad de larvas se obtuvo un mayor porcentaje en cuanto a esta variable en la concentración de 18 g siendo de casi el 73%. Adicionalmente si el medio presenta una baja humedad provoca que las larvas se deshidraten aumentando su mortalidad y reduciendo significativamente la duración en su ciclo de desarrollo, teniendo en cuenta que *T.absoluta* raspa las hojas las cuales se presentan dureza intermedia, la alta concentración de agar de la dieta podría provocar daños en las mandíbulas induciendo una muerte por inanición.



**Figura 5.** Porcentaje de huevos eclosionados a diferentes concentraciones de agar, a  $18.8^{\circ}\text{C} \pm 0.49$  y  $74.8\% \pm 3.96$ . (Barras con diferente letra indican diferencias entre tratamientos con respecto a la prueba de Tukey (5%)).



**Figura 6.** Supervivencia promedio de larvas en días a diferentes concentraciones de agar.  $18.8^{\circ}\text{C} \pm 0.49$  y  $74.8\% \pm 3.96$ . (Tratamientos con diferente letra indican diferencias entre tratamientos con respecto a la prueba de Tukey (5%))

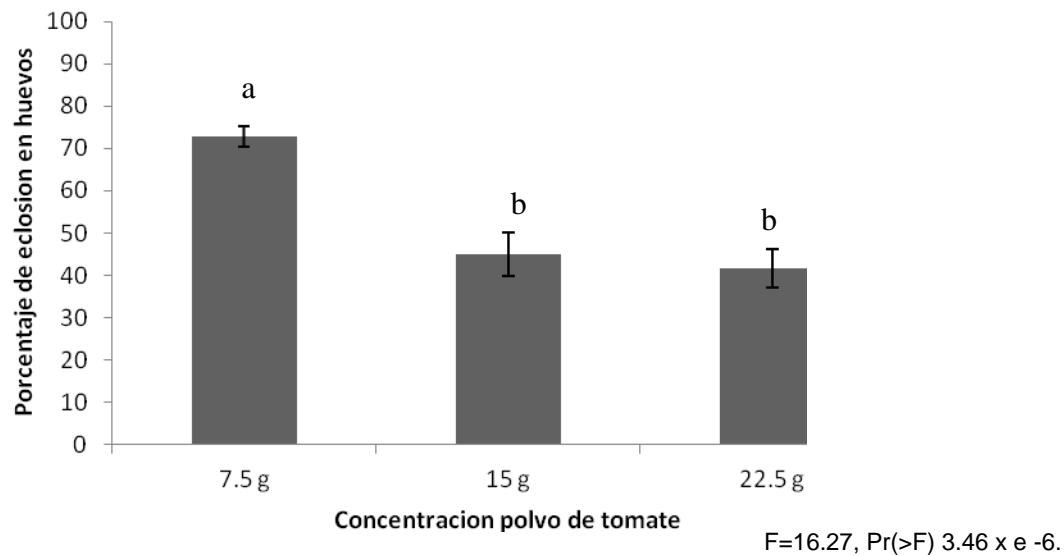
**Tabla 3.** Viabilidad y duración de larvas a diferentes concentraciones de agar. 18,8°C  $\pm 0.49$  y 74,8 %  $\pm 3.96$ . (Tratamientos con diferente letra indican diferencias entre tratamientos con respecto a la prueba de Tukey (5%))

<b>Dieta/ concentración de agar</b>	<b>Viabilidad de larvas %</b>	<b>Duración días</b>
<b>16 g</b>	<b>57.0%</b>	<b>7.33 +/- 2.94 ab</b>
<b>18 g</b>	<b>75.2%</b>	<b>19.20 +/- 6.50 a</b>
<b>20 g</b>	<b>48.3%</b>	<b>7.83 +/- 5.49 b</b>
<b>22 g</b>	<b>65.0%</b>	<b>12.33 +/- 2.88 b</b>

F= 3.421, Pr(F)= 0.0371.

**Evaluación del efecto de la concentración polvo de tomate en la dieta artificial, sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de *T. absoluta***

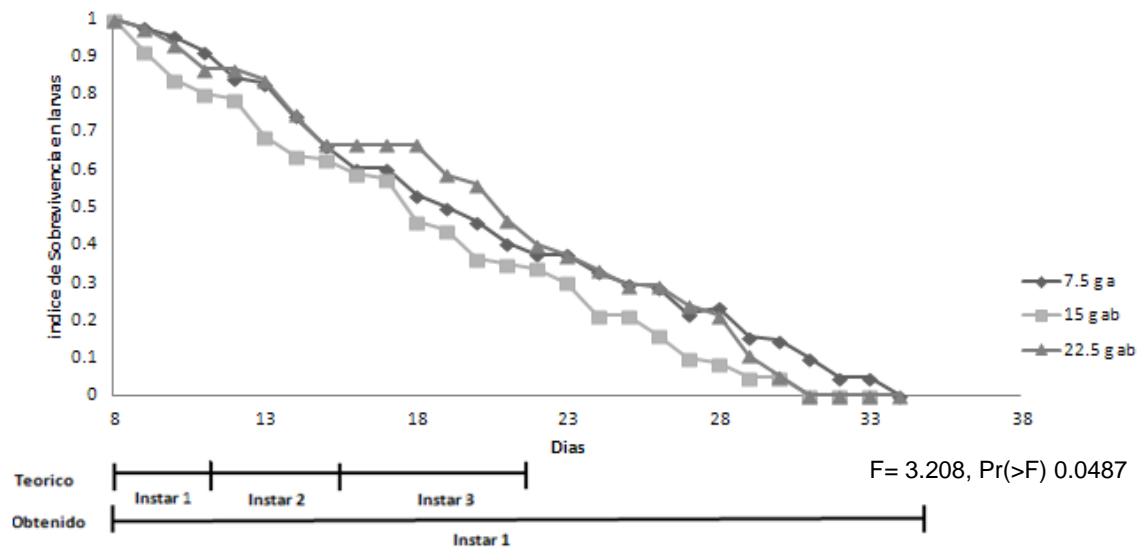
En la Figura 7 se observa el efecto de diferentes concentraciones de polvo de tomate sobre la eclosión de huevos, siendo la concentración de 7.5 g de polvo de tomate en la cual se obtiene significativamente ( $p = 2.36 \times 10^{-6}$ ) un mayor número de individuos.



**Figura 7.** Porcentaje de huevos eclosionadas en cada concentración con polvo de tomate. 18,8°C ±0.49 y 74,8 %±3.96. (Barras con diferente letra indican diferencias entre tratamientos con respecto a la prueba de Tukey (5%))

Esto puede deberse principalmente a la textura del medio, ya que el aumento en la concentración de polvo de tomate puede disminuir la humedad propia de la dieta Quyyum y Zalucky (1987) reportan que al disminuir a menos del 75%, se obtiene una eclosión menor al 56%, en este caso el porcentaje de eclosión fue superior al 70% con una humedad relativa del 75%, se debe tener en cuenta que en concentraciones altas se obtuvo una menor eclosión, lo que indica que no es necesario malgastar el material vegetal lo que reduciría considerablemente los costos de producción de plantas de tomate para obtener este componente para la dieta artificial. En cuanto a la sobrevivencia fue mayor en la concentración de 22.5 g siendo en promedio del 53%, seguido 7.5 g con 48% y 15 g con el 42% como se puede evidenciar en la Figura 8, menor a la reporta en dieta natural que es del 63% (Medeiros et al., 2009)

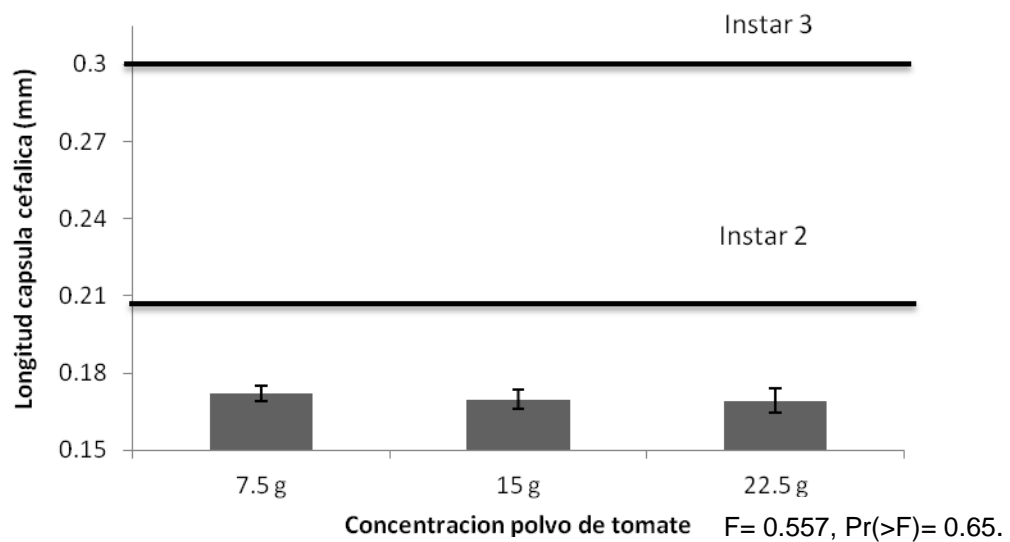




**Figura 8.** *Sobrevivencia de larvas en días a diferentes concentraciones de polvo de tomate. 18,8°C  $\pm$ 0.49 y 74,8 % $\pm$ 3.96. (Tratamientos con diferente letra indican diferencias entre tratamientos con respecto a la prueba de Tukey (5%))*

Al evaluar diferentes concentraciones del material vegetal se encontró que en la concentración más baja de 7.5 g de polvo de tomate la duración del estadio larval era mayor comparado con concentraciones mayor de 15 g y 22.5 g. Mihsfeldt y Parra (1999), evaluaron una concentración de polvo de tomate de 15 g obteniendo una duración larval de 18.52 días, en este caso fue de 15.83 días con la misma cantidad de polvo de tomate, menor a la reportada por Mihsfeldt y Parra (1999) quienes obtuvieron adultos, en este caso las larvas solo llegaron hasta primer instar. Pinheiro *et al.* (2006) resaltan que los factores que pueden limitar el desarrollo de las larvas es la baja fuente de ácidos grasos, principalmente esteroides quienes son los precursores de la hormona de la muda provocando la muerte de larvas en los primeros estadios de desarrollo (Genc, 2005), además de la vitamina BT(L.carnitina) que en deficiencia provoca retraso en el desarrollo y poca movilidad de las larvas (Genc, 2005). La ausencia de estos factores pudo no haber sido reportada en la dieta Mihsfeldt y Parra (1999), lo que pudo resultar en retraso en el desarrollo y no el paso hacia el tercer instar susceptible a la parasitación por *Apanteles gelechiidivoris* como se observa en la

figura 9. Los ácidos grasos están reportados en gran mayoría de dietas para lepidópteros por lo que se podría pensar que este podría ser el factor limitante en este caso y su aumento puede facilitar el desarrollo de la plaga (Morton, 1979). Finalmente, la concentración en la que se obtuvo una mayor duración mayor fue la de 7.5 g (Tabla.4). Por esta razón, se tomó esta concentración de polvo de tomate para ser evaluada simultáneamente con las otras dietas reportadas en literatura y con la modificación a la dieta de Mihsfeldt y Parra (1999).



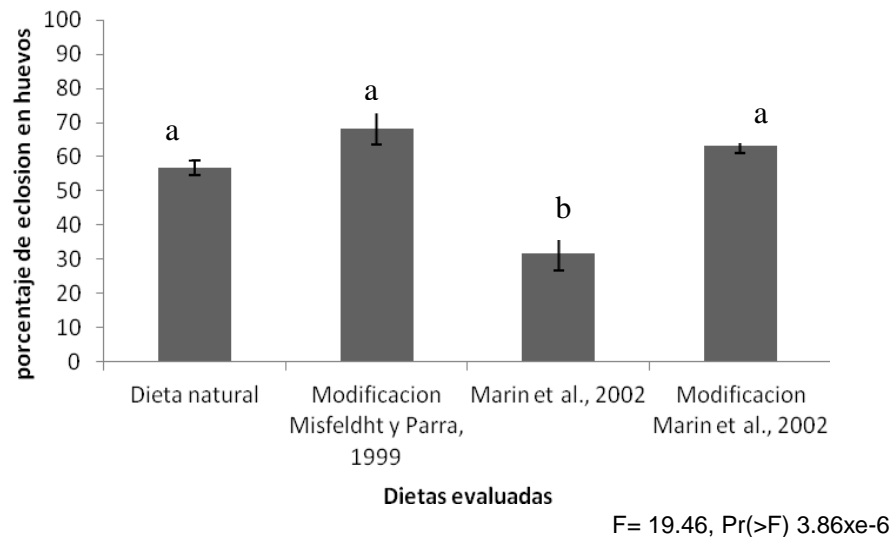
**Figura 9.** Longitud de la capsula cefalica de larvas en dietas artificiales con diferentes concentraciones de polvo de tomate  $18,8^{\circ}\text{C} \pm 0.49$  y  $74,8\% \pm 3.96$ .

**Tabla 4.** Viabilidad y duración de larvas a diferentes concentraciones de polvo de tomate 18,8°C  $\pm$ 0.49 y 74,8 % $\pm$ 3.96.

<b>Dieta/ concentración de polvo de tomate</b>	<b>Viabilidad de larvas %</b>	<b>Duración días</b>
<b>7.5 g</b>	<b>57.0%</b>	<b>21.70 +/- 1.40 a</b>
<b>15 g</b>	<b>75.2%</b>	<b>17.60 +/- 1.48 ab</b>
<b>22.5</b>	<b>48.3%</b>	<b>18.83 +/- 1.72 b</b>

**Evaluación de diferentes dietas (artificial y natural) sobre porcentaje de eclosión de huevos y sobrevivencia de larvas de *T. absoluta***

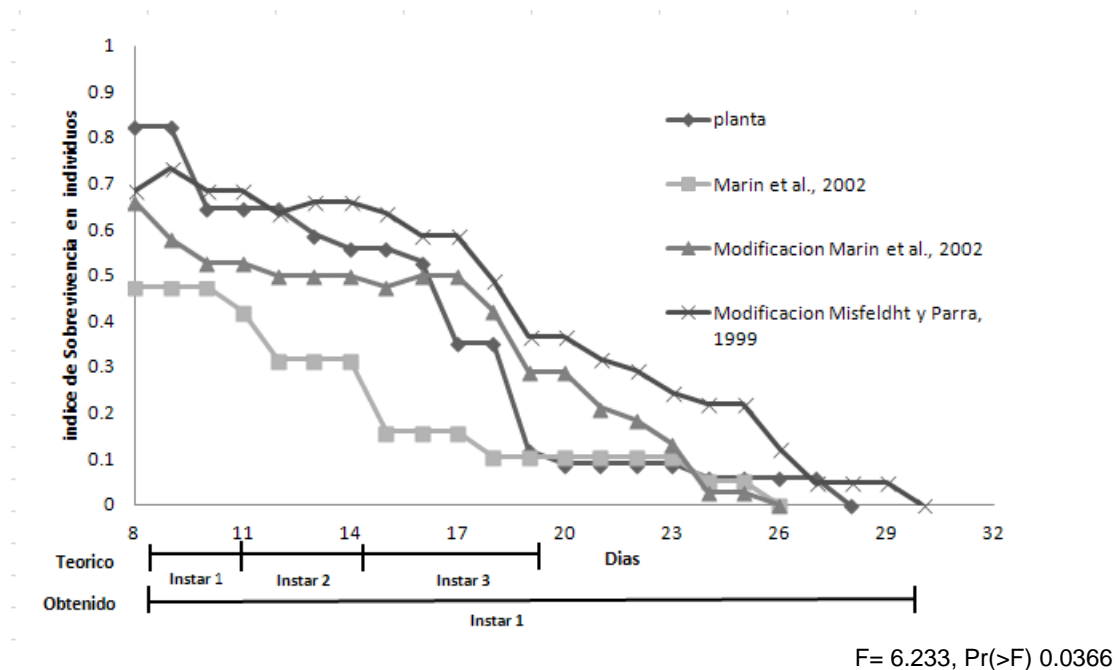
En la Figura 10 se observa que se obtuvo mayor número de huevos eclosionados en la dieta artificial reportada por Misfeldt y Parra (1999), siendo incluso mayor a la obtenida en la dieta natural, esto puede atribuirse a que en esta ultima se presentó un ataque por otra plaga *Liriomyza huidobrensis* quienes no ovipositan sobre las nervaduras de las hojas como lo hace *T.absoluta*, además las hembras al ovipositar provocan una herida en la planta que genera un refugio para larvas recién eclosionadas (Lizzaraga, 1990), razón por la cual no se observó esta plaga previo a ser infestados con *T.absoluta*, además el ataque por *L. huidobrensis* pudo disminuir la eclosión de los huevos ubicados en este tratamiento, ya que al alimentarse de la hoja pudo provocar la caída de los huevos de *T. absoluta*, disminuyendo el sustrato de consumo del lepidóptero que se estaba estudiando.



**Figura 10.** *Porcentaje de huevos eclosionados en las dieta reportadas en literatura junto con la dieta natural. 18,8°C  $\pm$ 0.49 y 74,8 % $\pm$ 3.96. (Barras con diferente letra indican diferencias entre tratamientos con respecto a la prueba de Tukey (5%))*

En cuanto a la sobrevivencia de las larvas, se obtuvo una mayor sobrevivencia promedio en la dieta propuesta por Misfeldht y Parra (1999) siendo del 51% seguida de la dieta natural con el 50% como se observa en la Figura 11, adicionalmente en la dieta natural se completaron todos los estados desarrollo de la plaga, lo que no ocurre con la dieta artificial en la que las larvas solo llegaron hasta primer instar como se observa en la Figura 10, según Thompson y Hagen (1999) el desarrollo incompleto se debe a la baja concentración de ácidos grasos por esta razón recomiendan un aumento en carotenoides y esteroides en las dietas artificiales, ya que estos factores

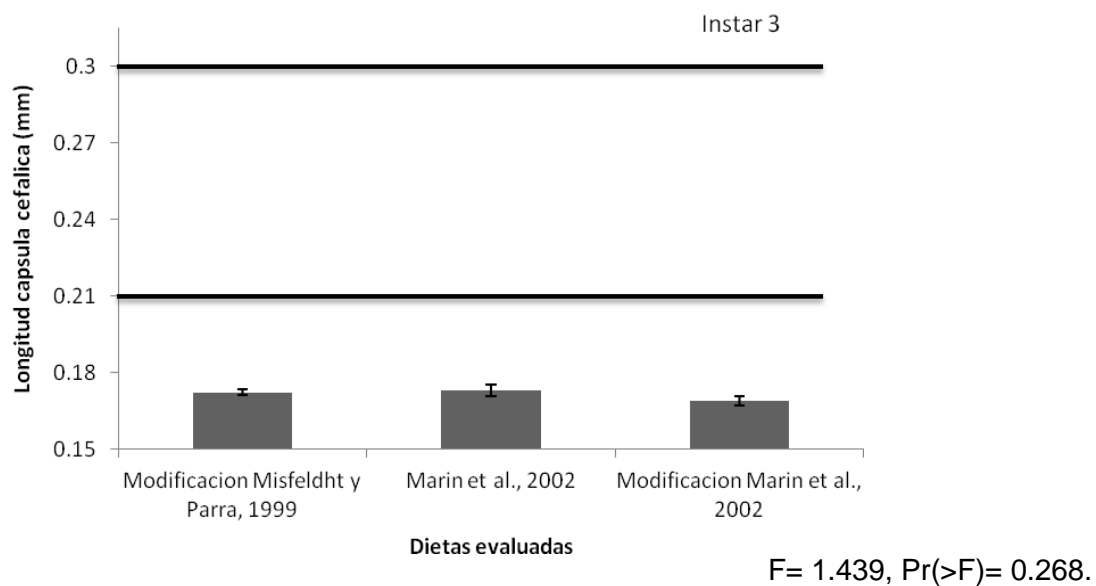
pueden favorecer el desarrollo de las larvas.



**Figura 11.** Supervivencia de larvas en las dietas reportadas en literatura junto con la dieta natural. (Tratamientos con diferente letra indican diferencias entre tratamientos con respecto a la prueba de Tukey (5%))

Por otro lado, si se tiene cuenta que el polvo de tomate debería otorgar estos nutrientes la concentración de estos debe ser mayor, ya que este producto no supe los suficientes esteroides y caretenoides necesarios para su desarrollo. En cuanto a la dieta artificial reportada por Marin *et al.* (2002), reportan que obtuvieron adultos aunque evaluaron larvas a partir de tercer instar de desarrollo obteniendo adultos con alta viabilidad. Si se tiene en cuenta lo anterior, no es comparable con este ensayo ya que las larvas estaban totalmente desarrolladas y no se puede aplicar a sistema de cría masiva como lo sugiere Misfeldht y Parra (1999). Finalmente, en la modificación a la dieta artificial reportada por Marin *et al.* (2002) se observa que al agregar polvo de tomate se pueden suplir ciertos factores que faltan en la dieta. Trejo *et al.* (2004), evaluaron cinco dietas para *Copitarsia incommoda* en las que encontraron que la dieta donde se agregó una fuente de celulosa, se obtuvo mayor peso y longitud que en las otras tres dietas que no tenían fuente vegetal extra. En cuanto al desarrollo en ninguna de las tres dietas artificiales las larvas lograron completar el segundo instar de

desarrollo por ende tampoco el tercer instar necesaria para la parasitación de *Apanteles gelechiidivoris* como se observa en la Figura 12, teniendo en cuenta los parámetros reportados por Bogorni y Carvalho (2006) en cuenta a longitud de esta región. La duración en días de las larvas tabla 5 para la dieta natural, la dieta reportada por Mihsfeldt y Parra (1999) y la modificación a la dieta de Marín *et al.* (2002) fueron mayores a la dieta de Marín *et al.* (2002), sin modificación lo que podría indicar que agregar una fuente material vegetal podría mejorar la duración de larvas alimentadas con esta dieta, además se obtuvo una mayor viabilidad en la dieta reportada por Misfeldht y Parra (1999) seguida por la modificación a la dieta de Marin *et al.* (2002)



**Figura 12.** Longitud de la capsula cefalica de larvas en todas las dietas artificiales evaluadas  $18,8^{\circ}\text{C} \pm 0.49$  y  $74,8\% \pm 3.96$

**Tabla 5.** Viabilidad y duración de larvas en diferentes dietas. 18,8°C  $\pm$ 0.49 y 74,8 % $\pm$ 3.96.

Dietas	Viabilidad de larvas %	Duración días
Dieta natural	57.0%	23.70 +/- 3.61 a
Dieta Misfeldt Y Parra (1999)	68.3%	25.83 +/- 2.92 a
Marin et al (2002)	31.6%	14.83 +/- 8.68 a
Modificación Marin et al (2002)	63.3%	24.00 +/- 1.01 b

## CONCLUSIONES

Ninguna de las dietas artificiales evaluadas funciona para la cría de *Tuta absoluta*, debido a que ninguna proporciona los nutrientes adecuados para que las larvas lleguen a tercer instar de desarrollo y sean susceptible a la parasitación de *Apanteles gelechiidivoris*.

Las dietas artificiales tienen un efecto negativo sobre la sobrevivencia de las larvas, ya que afecta el desarrollo de larvas a diferencia de la natural en la que las larvas lograron completar todo su ciclo de vida.

Al agregar un componente como el polvo de tomate se obtuvo una mayor duración larval en la dieta propuesta por Marin *et al.* (2002), lo que indica que agregar otros componentes no reportados en la dieta pueden favorecer el desarrollo *T.absoluta*.

## RECOMENDACIONES

Realizar un análisis bromatológico tanto a las plantas como a la dieta, con el fin de determinar qué factores podrían estar ausentes o en bajas concentraciones en la dieta artificial.

Evaluar diferentes concentraciones de esteroides y de vitaminas BT que podría favorecer el desarrollo de *Tuta absoluta*.

Evaluar la dieta artificial como sustrato de oviposición con el fin de ser implementadas en la cría masiva del hospedero de *A.gelechiidivoris*.

Filtrar puede provocar la pérdida de ácidos grasos por esta razón no se recomienda realizar este paso, además se debería agregar la tetraciclina posterior al calentamiento de la dieta.

## ANEXOS

**Tabla 6.** Anova número de larvas eclosionadas a diferentes concentraciones de agar.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de f	Probabilidad
Tratamiento	3	8.125	2.793	3.421	0.0371*
Residuales	20	15.833	0.7917		

**Prueba de Shapiro-Wilk para el número de larvas eclosionadas para diferentes concentraciones de agar.**

**W=0.9444 Valor de p= 0.2096**

**Tabla 7.** Prueba de Tukey para el número de larvas eclosionadas para diferentes concentraciones de agar.

Grupos	Tratamientos	Medias
a	18 g	6.5
ab	22 g	6.1
b	20 g	5.5
b	16 g	5.0

**Tabla 8.** Anova duración de larvas a diferentes concentraciones de agar.



Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de f	Probabilidad
Tratamiento	3	667.50	222.49	6.491	0.00303**
Residuales	20	685.50	34.27		

Prueba de Shapiro-Wilk para la duracion en dias de larvas a diferentes concentraciones de agar.

W=0.9509 Valor de p= 0.2893

**Tabla 9.** Prueba de Tukey para la duracion de larvas a diferentes concentraciones de agar.

Grupos	Tratamientos	Medias
a	18 g	19.7
ab	22 g	11
b	20 g	6.83
b	16 g	6.7

**Tabla 7.** Anova de número de huevos eclosionados a diferentes concentraciones de polvo de tomate.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de f	Probabilidad
Tratamiento	2	1.264	0.6319	16.27	3.43e-06 ***
Residuales	51	1.981	0.0388		

Prueba de Shapiro-Wilk para el número de huevos eclosionados para diferentes concentraciones de polvo de tomate.

W=0.9366 Valor de p=0.006725

**Tabla 10.** Prueba de Tukey para el número de huevos eclosionados para diferentes concentraciones de polvo de tomate.

Grupos	Tratamientos	Medias
a	7.5 g	7.3
ab	15 g	4.5
b	22.5 g	4.2

**Tabla 11.** Anova duración de larvas a diferentes concentraciones de polvo de tomate.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de f	Probabilidad
Tratamiento	2	240.3	120.17	3.208	0.0487*
Residuales	51	1910.5	37.46		

**Prueba de Shapiro-Wilk para la duracion de larvas a diferentes concentraciones de polvo de tomate.**

**W=0.8882 Valor de p=0.0001136**

**Tabla 12.** Prueba de Tukey para la duración de larvas a diferentes concentraciones de tomate.

Grupos	Tratamientos	Medias
a	7.5 g	21.0
ab	15 g	18.3
b	22.5 g	15.9

**Tabla 13.** Anova numero de huevos eclosionados para las dietas evaluadas.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de f	Probabilidad
tratamiento	3	0.5272	0.17573	17.01	9.98e-06 ***
residuales	20	0.2066	0.01033		

**Prueba de Shapiro-Wilk para las Diferentes dietas evaluadas**

**W=0.9237 Valor de p=0.07055**

**Tabla 14.** Prueba de Tukey para el número de huevos eclosionados para diferentes dietas evaluadas

Grupos	Tratamientos	Medias
a	Misfeldt y Parra	0.97
a	Marin modificada	0.71
a	Dieta natural	0.64
b	Marin et al	0.58

**Tabla 15.** Anova duracion de larvas para las dietas evaluadas

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de f	Probabilidad
Tratamiento	3	475.5	158.4	6.233	0.00366**
Residuales	20	508.5	25.43		

**Prueba de Shapiro-Wilk para las Diferentes dietas evaluadas**

W=0.9589 Valor de p=0.4174

**Tabla 16.** Prueba de Tukey para el duración de larvas en las dietas evaluadas

Grupos	Tratamientos	Medias
a	Misfeldt y Parra	25.8
a	Marin modificada	25.1
a	Dieta natural	24
b	Marin et al	14.8

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Acatitla C, Bautista N, Vera J, Romero J y Calyecac H.2004.ciclo biológico y tasas de supervivencia y reproducción de *Copitarsia incommoda* Walker (lepidóptera: noctuididae) en cinco dietas artificiales. Agrociencia 38:355-363.
2. Carson A. Insect diets. 2004. Crc press. 324 pag
3. Bajonero J, Cordoba, N, Cantor F, Rodriguez, D Y Cure J.2008. biología y ciclo reproductivo de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae), parasitoide de *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Agronomía Colombiana.26(3):417:425
4. Blanco C, Portilla M, Craig A, Winters H, Ford R Y Street D.2009. Soybean flour and wheat germ proportions in artificial diet and their effect on the growth rates of the tobacco budworm, *Heliothis virescens*. Journal of science insect. 9(59): 1536- 2442.
5. Bavaresco A, Garcia M, Bottom M y Nondillo A. 2005. Avaliação de dietas artificiais para criação de *Hypocala andremona* (Stoll, 1781) (Lepidoptera: Noctuidae). Revista de ciencias agroveterinarias,24(2):94-100.
6. Bogorini P, Carvalho G.2006. Biología de *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae) em diferentes cultivares de *Lycopersicon esculentum*. Bioikos y campinas. 20(2):49-61.
7. Collavino M, Gimenez R.2008. Efecto del imidacloprid en el control de la polilla del tomate (*Tuta absoluta* meyrick). IDESIA. 26(1): 65-72.

8. De vis R, Fuentes L, Escobar H & Lee R. 2001. Manejo integrado de plagas y enfermedades. En: Escobar H. & Lee R. (Eds.). Producción de tomate bajo invernadero. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. 59-90.
9. Dos santos A, Oliveira R, Silva S y Freitas A.2011. Efficacy of insecticides on *Tuta absoluta* (Meyrick) and other pests in pole tomato. Sociendad entomológica do Brasil. 6(4):1-6.
10. Desneux N, Wanjberg E, Wychikus K, Burgio G, Arpaia S, Narvaez C, Gonzales J, Catalan R, Tabone E, Frandon J, Pizzol J. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control
11. Escobar, A, Cantor, F, Y Cure J. 2004. Contribución al conocimiento de la biología de *Apanteles gelechiidivoris* (Hymenoptera: Braconidae). Revista Facultad de Ciencias, Universidad Militar Nueva Granada, 1(1) : 71-74
12. Escobar H Y Lee R. 2001. Producción de tomate bajo invernadero. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. 1era edición. pp. 65, 68-70.
13. Estay P. 2000. Polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). Informativo la Platina No. 9. (Enero). Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Ministerio de Agricultura. Santiago de Chile.
14. Fernandez, S., and A. Montagne. 1990a. Biologica del minador del tomate, *Scrobipalpula absoluta* (Meyick). Bol. Entomol. Venez N. S. 5(12):89-99.
15. Gacemi A, Guena Y. Efficacy of Eamectin Benzoate on *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) Infesting a Protected Tomato Crop in Algeria
16. Garcia del pino F Y De haro A.1986. Cultivo en el laboratorio en una dieta artificial del taladro de la madera, *Zeuzera pyrina* L.(Lepióptera cossidae). Boletin de sanidad vegetal plagas. 12:281-289.
17. Genc H.2006. Genral principles of Insect Nutrional ecology.Takaya University journal of science. 7(1):53-57.
18. Genc H Y Nation J.2004. An artificial diet for the butterfly *Phyciodes phaon* (lepidoptera: nymphalidae). Florida entomologist. 87(2): 194-198.
19. Guistolin T, Vendramim J,y Parra J. 1995.Desenvolvimento de uma dieta artificial paraestudos do efeito de aleloquímicos sobre *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 24(2): 265-272
20. Guedes R, Picanco M, Matoili, A,y Rocha, D. 1994. efeito de inseticidas e sistemas de conducao do tomateiro no controle de *Scrobipalpuloides absoluta* (meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). An Sociedad Entomologia de Brasil. 23(2):321-325.
21. Lizarraga A.1990. Biología de la mosca minadora *Liriomyza huidobrensis* Blanchard (Diptera, Agromyzidae). Revista Ilatrioamericana de la papa. 30:440de

22. Limonta J, Sulo J y Locatelli D.2010. Temperature-dependent development and survivorship of *Idaea inquinata* (Scopoli) (Lepidoptera Geometridae) eggs at two humidity levels. Journal of entomological and acarological research. 42(3): 153-160.
23. Limonta L, Stampini M y Locatelli D.2010. Egg hatching at different temperatures and relative humidities in *Idaea inquinata* (Scopoli) (Lepidoptera: Geometridae). 10 th international working conference on stored product protection.
24. Marin, M, Diaz E, Querceti, M Y Caballero A.2002. *Tuta absoluta* cría en condiciones de laboratório.Revista de la facultad de ciencias agrarias.34(2):1-6}
25. Medeiros M, Ryoiti E, Correa G, Setti R y Castanheira H. Padrão de oviposição e tabela de vida da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae). Controle biológico e protecao de plantas. 53(3).
26. Morton A. 1979. Rearing butterflies on artifitial diets. Journal of research on the lepidóptera. 18(4): 221- 227.
27. Moralez J y Muñoz L.2008. Accion combinada de feromonoa sexual y avispa de la espécie *Apanteles gelechidivoris* para El control de *Tuta absoluta* em cultivos comerciales de tomate. Trabajo presentado para optar AL titulo de biólogo. Programa biologia aplicada. Facultad de ciências básicas. Universidad Militar Nueva Granada.
28. Mihsfeldt L y Parra J.1999. Biologia de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) em dieta artificial. *Sci. agric.* [online]. , vol.56, n.4, pp. 769-776.
29. Michereff M y Vilela E. 2001. Traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). En: Vilela, E.F., Cantor, F. & Zucchi, R.A. (eds). Pragas introduzidas no Brasil. Editora Holos, Ribeirao Preto (Brasil), : 81-84.
30. Morton A. 1979. Rearing Butterflies on artificial diets. Journal of research on the lepidóptera. 18(4) :221-227.
31. Muñoz L Y Morales J. 2006. Evaluación de diferentes densidades de *Tuta absoluta* (Lepidóptera: Gelechiidae) en plantas de papa criolla. Universidad Militar Nueva Granada. Proyecto de Iniciación científica.
32. Parra J.2001. A biologia de insetos e o Manejo de Pragas: da criação em laboratório à aplicação em campo. In: J.C. GUEDES; I.D. COSTA; E. CASTIGLIONI. (Org.). Bases e Técnicas do Manejo de Insetos. Univ. Fed. de Santa Maria, RS: , 2000 1:29.
33. Parra J.2007. TECNICAS DE Criação de insetos para programas de controle biologico. Universidade de Sao Paulo. Escola superior de agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ/FEALQ. 6 Ed, rev. Ampl.. 134 p.
34. Qayyun A y Zalucky P. 1987. Effects of high temperature on survival of eggs *offheliothis armigera* (hubner) and h. *punctigera wallengren* (lepidoptera: noctuidae). Journal of Australian entomology society. 26:295-296.

35. Pereyra P y SAnchez N. 2006. Effect of Two Solanaceous Plants on Developmental and PopulationParameters of the Tomato Leaf Miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae).Neotropical entomology. 35(5)671:675.
36. Pratissoli D, Zanuncio J, Vianna U, Andrade J, Zinger F,Carvalho, J y Demolin G.2008. Parasitism Capacity of *Trichogramma pretiosum* and *Trichogramma acacioi* (Hym.: Trichogrammatidae) on eggs of *Sitotroga cerealella* (Lep.: Gelechiidae).Brazilian archives biology of technology.51(6).
37. Pierce J, Monk Y. 2007.Influence of Management on Crop Microclimate and Control of Cotton Bollworm, *Helicoverpa zea* Boddie. Universidad de Nuevo Mexico.
38. Pinheiro F, Rosato G, Garcia M, Manzoni C, Bernardi O y Zart M. 2006. Biologia de *helicoverpa zea* (boddie, 1850) (lepidoptera: noctuidae) em duas dietas artificiais. Revista brasileira agrociencia. 12(2):167-171.
39. Ramirez L, Ramirez N, Fuentes L, Jimenez J Y Hernandez-Fernandez J.2010. Estandarización de un bioensayo y evaluación preliminar de tres formulaciones comerciales de *Bacillus thuringiensis* sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:Gelechiidae).revista colombiana de biotecnología 12(1):12-21
40. Riquelme V, Botto N Y Lafalce C.2006. Evaluación de algunos insecticidas para el control de la “polilla del tomate”, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) y su efecto residual sobre el parasitoide *Trichogrammatoidea bactrae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Revista sociedad entomológica argentina 65(3-4):57-65
41. Soarez C, Fernandez N, Ramos N. 2010. A traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*). Horticulture- sanidae. 66
42. Shing P. 1977. Artificial diets for insects, mites and spiders. Plenum, 594 p
43. Schowalter T. 2006. Insect Ecology: An Ecosystem Approach. Academic press, segunda ediccion. 576 pag
44. Siqueira H, Guedes R & Picanco MC. 2000. Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* . *Agricultural and Forest Entomology* 2 , 147–153
45. Thompson S y Hagen S. 1999. Nutrition of entomophagous insects and other arthropod. pp. 594-652 In T. S. Bellows, T. W. Fisherc. Handbook of Biological Control Principles and Applications of Biological Control. Academic Press, New York.
46. Trejo C, Buatista N, Vera J, Romero J y Calyecac H.2004. Ciclo biológico y tasas de supervivencia y reproducción de *copitarsia incommoda* walker (lepidoptera: noctuidae)en cinco dietas artificiales. Arociencia. 38:355-363.
47. Vargas C, Shannon P, Taveras R, Soto F Y Hilie L.2001. Un nuevo metodo para la cria masiva de *Hypsipyla grandella*. Manejo integrado de plagas (Costa rica) 62 (4):1-4.

48. Velez R. 1988. Reconocimiento, identificación y biología de especies de Gelechiidae (Lepidoptera) en plantas solanáceas del departamento de Antioquia. En. Revista Colombiana de Entomología 14 (2):25- 32.
49. Vélez R. 1997. Plagas agrícolas de impacto económico en Colombia: bionomía y manejo integrado. Editorial Universidad de Antioquia, Medellín, p. 379-385 .

### **Consulta virtual**

- SNE. 2009. Colombia abre exportaciones de tomate a Costa Rica. Presidencia de la República, Colombia.  
[http://www.presidencia.gov.co/prensa\\_new/sne/2007/abril/03/01032007.htm](http://www.presidencia.gov.co/prensa_new/sne/2007/abril/03/01032007.htm).
- Agronet. 2010. Reporte producción de Tomate en el departamento de Cundinamarca, 1987 - 2010.  
<http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/ReportesAjax/VerReporte.aspx>